

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING  
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and  
Administrative Instructions, Section 422)

To:

OTTEVANGERS, S., U.  
Vereenigde  
Nieuwe Parklaan 97  
NL-2587 BN The Hague  
PAYS-BAS

Date of mailing (day/month/year) 02 May 2000 (02.05.00)		<b>IMPORTANT NOTIFICATION</b>  International filing date (day/month/year) 14 September 1999 (14.09.99)	
Applicant's or agent's file reference P10074PC00			
International application No. PCT/NL99/00569			

1. The following indications appeared on record concerning:			
<input type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor	<input checked="" type="checkbox"/> the agent	<input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address OTTEVANGERS, S., U. Vereenigde Octrooibureaux Nieuwe Parklaan 97 NL-2587 BN The Hague Netherlands		State of Nationality	State of Residence
		Telephone No. 070-4166711	
		Facsimile No. 070-4166799	
		Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:			
<input type="checkbox"/> the person	<input checked="" type="checkbox"/> the name	<input type="checkbox"/> the address	<input type="checkbox"/> the nationality
Name and Address OTTEVANGERS, S., U. Vereenigde Nieuwe Parklaan 97 NL-2587 BN The Hague Netherlands		State of Nationality	State of Residence
		Telephone No. 070-4166711	
		Facsimile No. 070-4166799	
		Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:			

4. A copy of this notification has been sent to:			
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input checked="" type="checkbox"/> the designated Offices concerned	<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:		

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer  Maria Victoria CORTIELLO  Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 18 May 2000 (18.05.00)	
<b>International application No.</b> PCT/NL99/00569	<b>Applicant's or agent's file reference</b> P10074PC00
<b>International filing date (day/month/year)</b> 14 September 1999 (14.09.99)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 15 September 1998 (15.09.98)
<b>Applicant</b> VERMIN, Reinier, Johannes, Christina et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

12 April 2000 (12.04.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p>The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland</p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p>Authorized officer Juan Cruz</p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
--	---

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference <b>P10074PC00</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. <b>PCT/NL 99/ 00569</b>	International filing date (day/month/year) <b>14/09/1999</b>	(Earliest) Priority Date (day/month/year) <b>15/09/1998</b>
Applicant <b>CAMPINA MELKUNIE B.V. et al.</b>		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

**1. Basis of the report**

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

**4. With regard to the title,**

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

**5. With regard to the abstract,**

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

**6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.**

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☐ None of the figures.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

CT/NL 99/00569

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 A23C9/127 A23C9/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A23C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KWAK H S ET AL: "BIOSTABILIZATION OF KEFIR WITH A NONLACTOSE-FERMENTING YEAST" JOURNAL OF DAIRY SCIENCE, vol. 79, no. 6, 1 June 1996 (1996-06-01), pages 937-942, XP000620045 cited in the application page 938	1-3,5, 7-9
X	C. DUITSCHAEVER: "Pure culture formation and procedure for the production of kefir" MILCHWISSENSCHAFT, vol. 42, no. 2, 1987, pages 80-82, XP002103083 MUNCHEN DE page 80, column 2	1-3,5-9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 January 2000

Date of mailing of the international search report

15/03/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-9016

Authorized officer

DESMEDT, G

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

CT/NL 99/00569

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 346 884 A (YAKULT HONSHA) 20 December 1989 (1989-12-20) claims 1,2; example 3 ---	1,2,7-9
X	FR 2 123 295 A (CALPIS FOOD IND CO LTD) 8 September 1972 (1972-09-08) claims 1-6; example ---	1,2,7-9
X	KAMALY K M ET AL: "CHARACTERISTICS OF CHEDDAR CHEESE MADE WITH MUTANT STRAINS OF LACTIC STREPTOCOCCI AS ADJUNCT SOURCES OF ENZYMES" MILCHWISSENSCHAFT, vol. 44, no. 6, 1 January 1989 (1989-01-01), pages 343-346, XP000027926 page 343, column 1 ---	8
A	US 3 563 760 A (SEIJI KUWABARA) 16 February 1971 (1971-02-16) claims 1-5; examples 1,2 -----	1,5,7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

T/NL 99/00569

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 346884	A	20-12-1989	JP 1317355 A	22-12-1989
			JP 2026986 C	26-02-1996
			JP 6026505 B	13-04-1994
			DE 68913817 D	21-04-1994
			DE 68913817 T	13-10-1994
			US 5055309 A	08-10-1991
FR 2123295	A	08-09-1972	JP 49011432 B	16-03-1974
			DE 2165655 A	13-07-1972
US 3563760	A	16-02-1971	NONE	

**PCT**WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION  
International Bureau

## INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification <sup>7</sup> : <b>A23C</b>	<b>A2</b>	(11) International Publication Number: <b>WO 00/15042</b> (43) International Publication Date: 23 March 2000 (23.03.00)
<p>(21) International Application Number: PCT/NL99/00569</p> <p>(22) International Filing Date: 14 September 1999 (14.09.99)</p> <p>(30) Priority Data: 1010096 15 September 1998 (15.09.98) NL</p> <p>(71) Applicants (for all designated States except US): CAMP-INA MELKUNIE B.V. [NL/NL]; Hogeweg 9, NL-5301 LB Zaltbommel (NL). INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA) [FR/FR]; 147, rue de l'Université, F-75338 Paris Cedex 07 (FR).</p> <p>(72) Inventors; and</p> <p>(75) Inventors/Applicants (for US only): <u>VERMIN</u>, Reinier, Johannes, Christina [NL/NL]; Bomschuit 19, NL-3448 WE Woerden (NL). <u>SPINNLER</u>, Henry-Eric [FR/FR]; 32 bis, avenue de la Division Leclerc, F-92310 Sèvres (FR).</p> <p>(74) Agent: OTTEVANGERS, S., U.; Vereenigde Octrooibureaux, Nieuwe Parklaan 97, NL-2587 BN The Hague (NL).</p>		<p>(81) Designated States: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p><b>Published</b> <i>In English translation (filed in Dutch). Without international search report and to be republished upon receipt of that report.</i></p>
<p>(54) Title: DAIRY PRODUCT AND METHOD FOR PREPARING SAME</p>		
<p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a method for preparing a dairy product, in which a medium comprising milk or a milk product is treated under aerobic conditions with a lactose-negative, food-technologically acceptable microorganism, and is then kept under anaerobic conditions for some time. Furthermore, the invention relates to a dairy product obtainable by this method.</p>		

**PCT**WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION  
International Bureau

## INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

<b>(51) International Patent Classification:</b> <b>A23C 9/127, 9/12</b>	<b>A3</b>	<b>(11) International Publication Number:</b> <b>WO 00/15042</b> <b>(43) International Publication Date:</b> 23 March 2000 (23.03.00)
<b>(21) International Application Number:</b> PCT/NL99/00569 <b>(22) International Filing Date:</b> 14 September 1999 (14.09.99) <b>(30) Priority Data:</b> 1010096 15 September 1998 (15.09.98) NL <b>(71) Applicants (for all designated States except US):</b> CAMP-INA MELKUNIE B.V. [NL/NL]; Hogeweg 9, NL-5301 LB Zaltbommel (NL). INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA) [FR/FR]; 147, rue de l'Université, F-75338 Paris Cedex 07 (FR). <b>(72) Inventors; and</b> <b>(75) Inventors/Applicants (for US only):</b> VERMIN, Reinier, Johannes, Christina [NL/NL]; Bomschuit 19, NL-3448 WE Woerden (NL). SPINNLER, Henry-Eric [FR/FR]; 32 bis, avenue de la Division Leclerc, F-92310 Sèvres (FR). <b>(74) Agent:</b> OTTEVANGERS, S., U.; Vereenigde Octrooibureaux, Nieuwe Parklaan 97, NL-2587 BN The Hague (NL).		<b>(81) Designated States:</b> AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Published</b> <i>With international search report.</i> <i>In English translation (filed in Dutch).</i>  <b>(88) Date of publication of the international search report:</b> 29 June 2000 (29.06.00)
<b>(54) Title:</b> DAIRY PRODUCT AND METHOD FOR PREPARING SAME		
<b>(57) Abstract</b>  The invention relates to a method for preparing a dairy product, in which a medium comprising milk or a milk product is treated under aerobic conditions with a lactose-negative, food-technologically acceptable microorganism, and is then kept under anaerobic conditions for some time. Furthermore, the invention relates to a dairy product obtainable by this method.		



**FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY**

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia and Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	The former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Greece	ML	Mali	TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	MN	Mongolia	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MR	Mauritania	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MX	Mexico	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	NE	Niger	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NL	Netherlands	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norway	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NZ	New Zealand	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Democratic People's Republic of Korea	PL	Poland		
CM	Cameroon	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kazakstan	RO	Romania		
CU	Cuba	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
CZ	Czech Republic	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Germany	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
DK	Denmark	LR	Liberia	SG	Singapore		
EE	Estonia						

onal Application No  
PCT/NL 99/00569

**Personal Application No**

PCT/NL 99/00569

**According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC**

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A23C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

### C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KWAK H S ET AL: "BIOSTABILIZATION OF KEFIR WITH A NONLACTOSE-FERMENTING YEAST" JOURNAL OF DAIRY SCIENCE, vol. 79, no. 6, 1 June 1996 (1996-06-01), pages 937-942, XP000620045 cited in the application page 938	1-3,5, 7-9
X	C. DUTSCHAEVER: "Pure culture formation and procedure for the production of kefir" MILCHWISSENSCHAFT, vol. 42, no. 2, 1987, pages 80-82, XP002103083 MUNCHEN DE page 80, column 2	1-3,5-9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

**"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone**

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

**"P"** document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

**13 January 2000**

**15/03/2000**

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3018

**Authorized officer**

**DESMEDT, G**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/NL 99/00569

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 346 884 A (YAKULT HONSHA) 20 December 1989 (1989-12-20) claims 1,2; example 3	1,2,7-9
X	FR 2 123 295 A (CALPIS FOOD IND CO LTD) 8 September 1972 (1972-09-08) claims 1-6; example	1,2,7-9
X	KAMALY K M ET AL: "CHARACTERISTICS OF CHEDDAR CHEESE MADE WITH MUTANT STRAINS OF LACTIC STREPTOCOCCI AS ADJUNCT SOURCES OF ENZYMES" MILCHWISSENSCHAFT, vol. 44, no. 6, 1 January 1989 (1989-01-01), pages 343-346, XP000027926 page 343, column 1	8
A	US 3 563 760 A (SEIJI KUWABARA) 16 February 1971 (1971-02-16) claims 1-5; examples 1,2	1,5,7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/NL 99/00569

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 346884	A	20-12-1989	JP 1317355 A	22-12-1989
			JP 2026986 C	26-02-1996
			JP 6026505 B	13-04-1994
			DE 68913817 D	21-04-1994
			DE 68913817 T	13-10-1994
			US 5055309 A	08-10-1991
FR 2123295	A	08-09-1972	JP 49011432 B	16-03-1974
			DE 2165655 A	13-07-1972
US 3563760	A	16-02-1971	NONE	

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

RECORD COPY

For Receiving Office use only

PCT/NL 99 / 0 0 5 6 9  
International Application No.

(14.09.99) 14 SEP 1999  
International Filing Date

BUREAU VOOR DE INDUSTRIËLE EIGENDOM  
P.C.T. INTERNATIONAL APPLICATION

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference  
(if desired) (12 characters maximum) P10074PC00

Box No. I TITLE OF INVENTION

Dairy product and method for preparing same

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Campina Melkunie B.V.  
Hogeweg 9  
5301 LB Zaltbommel  
the Netherlands

☐ This person is also inventor.

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality:  
NL

State (that is, country) of residence:  
NL

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)  
147, rue de l'Université  
75338 Paris cedex 07  
France

This person is:

☒ applicant only

☐ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:  
FR

State (that is, country) of residence:  
FR

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

Mr Drs S.U. Ottevangers, c.s.  
c/o VEREENIGDE OCTROOIBUREAUX  
Nieuwe Parklaan 97  
2587 BN The Hague  
the Netherlands

Telephone No.

070 - 4166711

Facsimile No.

070 - 4166799

Teleprinter No.

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

## Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANTS AND/OR (FURTHER) INVENTORS

*If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.*

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Vermin, Reinier Johannes Christina  
Bomschuit 19  
3448 WE Woerden  
the Netherlands

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:  
NL

State (that is, country) of residence:  
NL

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☐ all designated States except the United States of America

☒ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Spinnler, Henry-Eric  
32 bis Avenue de la Division Leclerc  
92310 Sevres  
France

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:  
FR

State (that is, country) of residence:  
FR

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☐ all designated States except the United States of America

☒ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

This person is:

☐ applicant only

☐ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☐ all designated States except the United States of America

☐ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Vermin, Reinier Johannes Christina  
Boomschuit 19  
3448 WE Woerden  
the Netherlands

This person is:

☐ applicant only

☐ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☐ all designated States except the United States of America

☐ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

## Box N.V DESIGNATION OF STATES

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

## Regional Patent

- ☒ AP ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- ☒ EA Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line) .....

## National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AE United Arab Emirates                  | <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albania                               | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenia                               | <input checked="" type="checkbox"/> LT Lithuania   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Austria                               | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxembourg  |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australia                             | <input checked="" type="checkbox"/> LV Latvia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Azerbaijan                            | <input checked="" type="checkbox"/> MD Republic of Moldova   |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnia and Herzegovina                | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagascar  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados                              | <input checked="" type="checkbox"/> MK The former Yugoslav Republic of Macedonia                             |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgaria                              |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brazil                                | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus                               | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Canada                                | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexico  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH and LI Switzerland and Liechtenstein  | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norway  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China                                 | <input checked="" type="checkbox"/> NZ New Zealand   |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Cuba                                  | <input checked="" type="checkbox"/> PL Poland  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Czech Republic                        | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal  |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE Germany                               | <input checked="" type="checkbox"/> RO Romania   |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Denmark                               | <input checked="" type="checkbox"/> RU Russian Federation  |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estonia                               | <input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spain                                 | <input checked="" type="checkbox"/> SE Sweden  |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finland                               | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapore   |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB United Kingdom                        | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slovenia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada                               | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slovakia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgia                               | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana                                 | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tajikistan  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia                                | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan  |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Croatia                               | <input checked="" type="checkbox"/> TR Turkey  |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Hungary                               | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad and Tobago   |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesia                             | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine   |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel                                | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN India                                 | <input checked="" type="checkbox"/> US United States of America  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Iceland                               |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                                 | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Uzbekistan  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenya                                 | <input checked="" type="checkbox"/> VN Viet Nam  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kyrgyzstan                            | <input checked="" type="checkbox"/> YU Yugoslavia  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP Democratic People's Republic of Korea | <input checked="" type="checkbox"/> ZA South Africa  |
|  | <input checked="" type="checkbox"/> ZW Zimbabwe  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR Republic of Korea                     | Check-boxes reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet: |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kazakhstan                            | <input checked="" type="checkbox"/> CR Costa Rica  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia                           | <input checked="" type="checkbox"/> DM Dominica  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka                             |  |
|  |  |

**Precautionary Designation Statement:** In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

<b>Box No. VI PRIORITY CLAIM</b>		<input type="checkbox"/> Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.		
Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1) 15 SEP 1998 15 September 1998 (15.09.98)	1010096	NL		
item (2)				
item (3)				

☐ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office) identified above as item(s)

\* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)). See Supplemental Box.

**Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

**Choice of International Searching Authority (ISA)**  
(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA / EP

**Request to use results of earlier search; reference to that search** (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Date (day/month/year)

Number

Country (or regional Office)

19 May 1999

SN 32146 NL

EP

**Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING**

This international application contains the following number of sheets:

request : 4

description (excluding sequence listing part) : 11

claims : 1

abstract : 1

drawings :

sequence listing part of description :

Total number of sheets : 17

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ separate signed power of attorney
3. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any:
4. ☐ statement explaining lack of signature
5. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
6. ☐ translation of international application into (language):
7. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material
8. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form
9. ☐ other (specify):

Figure of the drawings which should accompany the abstract:

Language of filing of the international application: Dutch

**Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT**

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).



C. J. J. van Loon

For receiving Office use only		2. Drawings:  <input type="checkbox"/> received:  <input type="checkbox"/> not received:
1. Date of actual receipt of the purported international application:	14 SEP 1999 (14.09.99)	
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. <input type="checkbox"/> Transmittal of search copy delayed until search fee is paid.	

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:	30 SEPTEMBER 1999	(30.09.99)
---	-------------------	------------



Titel: Zuivelproduct alsmede werkwijze ter bereiding daarvan.

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor de bereiding van een zuivelproduct, alsmede op een zuivelproduct verkrijgbaar door die werkwijze.

In de loop der jaren zijn er steeds meer  
5 verschillende soorten zuivelproducten ontwikkeld. De consument heeft de keus uit een breed scala aan producten, zoals vla met allerhande smaken, ijs, yoghurt en yoghurtdranken, kwark, Biogarde®, zure room, slagroom en crème fraîche.

10 Een aantal van de beschikbare zuivelproducten zijn zogenaamde gefermenteerde zuivelproducten. Dit wil zeggen dat bij de bereiding van die producten een fermentatiestap wordt uitgevoerd. In een dergelijke fermentatiestap wordt het product behandeld met microorganismen en/of  
15 enzymsystemen die de lactose die in het product aanwezig is in meer of mindere mate omzetten. Dergelijke fermentaties leveren, afhankelijk van het toegepaste microorganisme of mengsels van microorganismen en enzymen, een zuivelproduct op met een karakteristieke smaak en textuur. Voorbeelden  
20 van gefermenteerde zuivelproducten zijn yoghurt, Biogarde®, Biomild® kwark en zure room.

Om zuivelproducten, zowel gefermenteerde als niet-gefermenteerde, een bepaalde gewenste smaak te geven kunnen diverse additieven worden toegevoegd. Veel gebruikte  
25 additieven zijn zoetstoffen, smaakstoffen, geurstoffen en kleurstoffen. In producten als vla, vruchtenyoghurt en yoghurtdranken worden gebruikelijk kunstmatige additieven, vruchtensappen of plantenextracten gebruikt.

Van een aantal zuivelproducten wenst de consument  
30 een naturelvariant. Hiermee wordt een zuivelproduct bedoeld dat zijn karakteristieke uiterlijk en smaak dankt aan de aard van het zuivelproduct zelf, zonder dat er additieven toegevoegd zijn. Zuivelproducten waarvan met name de

beschikbaarheid van naturelvarianten verwacht wordt, zijn yoghurt, kwark, karnemelk en dergelijke.

Uit het Amerikaanse octrooischrift 4.675.193 is een tweestapswerkwijze bekend voor de bereiding van een product met een kaassmaak. Daartoe wordt in de eerste stap een  
5 smaak ontwikkelend medium met een vetgehalte tussen 0,5 en 50% (w/v) en een eiwitgehalte tussen 0,3 en 12% (w/v), bijvoorbeeld melk of wei, behandeld met een lipase- en/of proteasebron. Deze stap wordt onder aerobe omstandigheden  
10 uitgevoerd, waarna de toegepaste lipase- en/of proteasebron wordt geïnactiveerd. In een tweede stap wordt een fermentatie met een melkzuurproducerend microorganisme uitgevoerd.

Als lipase- en/of proteasebron worden bij voorkeur  
15 non-pathogene microorganismen toegepast, zoals *Penicillium roqueforti*, *Oidum lactis* (*Geotrichum candidum*), *Cladisporum butaryl*, *Micrococcus* en *Candida lipsolytica*. Bij voorkeur wordt *C. lipsolytica* gebruikt.

De behandelingsstap waarbij het smaakontwikkelend  
20 medium wordt toegepast omvat een fermentatie waarbij de lipase- en/of proteasebron het medium tot een pH tussen 4,5 en 5,5 verzuurd, gevolgd door een inactivering.

Het is een doel van de uitvinding een zuivelproduct te verschaffen dat wat betreft zijn textuur overeenkomt met  
25 een bekend zuivelproduct, zoals yoghurt of kwark, maar dat een afwijkende smaak en/of geur heeft.

Verrassenderwijs is gevonden dat dergelijke zuivelproducten kunnen worden bereid door een specifiek aroma in het zuivelproduct te brengen, welk aroma  
30 geproduceerd wordt door een specifiek aeroob microorganisme dat gedurende enige tijd onder anaërobe omstandigheden wordt gehouden. Bij voorkeur wordt tijdens deze anaërobe periode een gebruikelijke fermentatie uitgevoerd.

De uitvinding betreft een werkwijze voor het  
35 bereiden van een zuivelproduct, waarbij een medium omvattende melk of een melkproduct onder aërobe

omstandigheden wordt behandeld met een lactose-negatief, levensmiddelen-technologisch aanvaardbaar microorganisme.

Het is gebleken dat in een medium dat onder aërobe omstandigheden behandeld is met een lactose-negatief, 5 levensmiddelen-technologisch aanvaardbaar microorganisme tijdens een anaërobe periode karakteristieke aroma's worden gevormd. De aard van het aroma kan worden ingesteld door de keuze van het microorganisme binnen de klasse van lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare 10 microorganismen.

Het aroma dat volgens de uitvinding aan een zuivelproduct wordt verleend is afkomstig van een microorganisme dat het uitgangsmateriaal voor het te 15 bereiden zuivelproduct weinig verandert in die zin dat lactose niet wordt omgezet. Aldus wordt een zuivelproduct verkregen dat wat betreft de textuur nagenoeg gelijk is aan bekende varianten van het bereide zuivelproduct, doch dat een geheel nieuwe smaak en/of geur heeft.

Overigens is de toepassing van een lactose-negatief 20 microorganisme bij de bereiding van een zuivelproduct op zich bekend. Door Kwak et al. is in J. Dairy Sci., (1996) 79:937-942 een werkwijze beschreven waarbij een lactose-negatieve gist van het species *Saccharomyces cerevisiae*, wordt gebruikt om kefir te stabiliseren. Kefir is een 25 traditionele, Russische, gefermenteerde melkdrink die een geringe hoeveelheid alcohol en kooldioxide bevat. Volgens Kwak et al. wordt het lactose-negatieve microorganisme toegepast om in een voorfase onder anaërobe omstandigheden alcohol te produceren. Na deze voorfase wordt een verzuring 30 met melkzuurbacteriën uitgevoerd.

Het uitgangsmateriaal voor de werkwijze volgens de uitvinding is een medium omvattende melk of een melkproduct. Het is zowel mogelijk om een niet-behandelde melk te gebruiken als om een melk te gebruiken die vooraf 35 een hitte-behandeling, zoals een pasteurisatie of een sterilisatie, heeft ondergaan.

Om uitgroei van eventueel aanwezige, contaminerende microorganismen te voorkomen, heeft het de voorkeur om uit te gaan van een melk die vooraf een hitte-behandeling heeft ondergaan.

5 Het is tevens mogelijk om een van melk afgeleid product met een aangepast vetgehalte, zoals afgeroomde melk of room, te gebruiken.

Naast de melk of het melkproduct kan, en zal het medium doorgaans voedingsstoffen voor het lactose-  
10 negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme omvatten. Deze voedingsstoffen worden gebruikelijk onderverdeeld in koolstofbronnen en stikstofbronnen. Geschikte koolstofbronnen zijn stoffen die de voor de rijping van het lactose-negatieve,  
15 levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme benodigde koolstof kunnen leveren en die compatibel zijn met het (te bereiden) zuivelproduct. Voorbeelden zijn glucose en potato dextrose broth (PDB). Geschikte stikstofbronnen zijn stoffen die de voor de rijping van het  
20 lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme benodigde stikstof kunnen leveren en geen negatief effect hebben op het (te bereiden) zuivelproduct. Voorbeelden zijn maltextract, gistextract en trypton.

25 De keuze voor de te gebruiken voedingsstoffen zal afhangen van de aard van het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme. Wanneer het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme een gist is, worden bij  
30 voorkeur glucose, PDB en trypton als voedingsstof gebruikt. Wanneer het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme een bacterie is, worden bij voorkeur glucose en/of trypton als voedingsstof gebruikt.

De hoeveelheden van de voedingsstoffen in het medium  
35 dat het uitgangsmateriaal voor een werkwijze volgens de uitvinding vormt, worden afgestemd op de aard van het

lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch  
aanvaardbare microorganisme. De totale hoeveelheid aan  
toegevoegde, voor het aroma-vormend microorganisme  
benodigde, voedingsstoffen dienen voldoende te zijn om het  
5 microorganisme tot groei te brengen, doch niet zo groot te  
zijn dat een ongewenst aroma of een aroma van een  
ongewenste intensiteit tot stand komt. Wanneer PDB als  
koolstofbron wordt gebruikt, in het geval dat het lactose-  
negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare  
10 microorganisme een gist is, zal de hoeveelheid hiervan  
tussen 1 en 3 gram liggen. Wanneer in datzelfde geval  
trypton de stikstofbron is, zal hiervan 0.2 tot 1 gram  
worden gebruikt. Wanneer glucose als koolstofbron wordt  
gebruikt, in het geval dat het lactose-negatieve,  
15 levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme  
een bacterie is, zal de hoeveelheid hiervan tussen 0,5 en 5  
gram liggen. Wanneer in datzelfde geval trypton de  
stikstofbron is, zal hiervan 0,2 tot 1 gram worden  
gebruikt. Een en ander kan door de deskundige op eenvoudige  
20 wijze proefondervindelijk worden vastgesteld.

Het microorganisme waarmee het medium volgens de  
uitvinding wordt behandeld is een lactose-negatief,  
levensmiddelen-technologisch aanvaardbaar microorganisme.  
Hiermee wordt een microorganisme bedoeld dat niet in staat  
25 is lactose om te zetten. Met andere woorden, wanneer alleen  
lactose aanwezig is als koolstofbron, kan het  
microorganisme niet groeien.

Bij voorkeur is het lactose-negatieve,  
levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme  
30 een gist of een bacterie. Bijzonder geschikte giststammen  
zijn *Candida zelanoides* CBS 2328, *Candida zelanoides* ATCC  
26318, *Debaryomyces hansenii* CBS 772, *Debaryomyces hansenii*  
ATCC 10623, *Saccharomyces cerevisiae* CBS 400, *Saccharomyces*  
*cerevisiae* CBS 437, *Candida robusta* CBS 420 en  
35 *Zygosaccharomyces rouxii* CBS 441. Bijzonder geschikte  
bacteriën zijn afkomstig van de stammen *Micrococcus luteus*

ATCC 4698, *Micrococcus luteus* CIP A270, *Arthrobacter nicotiana* ATCC 21279 en *Corynebacterium flavescens* ATCC 10340.

Het is ook mogelijk om combinaties van lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganismen te gebruiken.

De keuze voor het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme of de combinatie van lactose-negatieve, levensmiddelentechnologisch aanvaardbare microorganismen kan geschikt worden afgestemd op het aroma dat is gewenst. Gevonden is dat door de behandeling met de genoemde microorganismen een breed scala aan aroma's kan worden geproduceerd, waaronder caramel, chocolade, kaasachtig, nootachtig, knoflook en een neutraal aroma dat de smaak van het fermentatieproduct echter rijker en ronder maakt.

Ter verkrijging van het gewenste aroma wordt het medium omvattende de melk of het melkproduct behandeld met het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme. Hierbij wordt het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme toegevoegd aan het medium en tot rijping gebracht. De hoeveelheid van het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme kan geschikt worden afgestemd op de hoeveelheid medium en de hoeveelheid (de sterkte) van het gewenste aroma. Doorgaans zal het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme in een hoeveelheid van  $10^6$  tot  $10^7$  per ml. melk of melkproduct worden gebruikt.

De rijping van het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme wordt tot stand gebracht onder aërobe omstandigheden. De pH en de temperatuur tijdens de rijping zullen afhangen van het specifieke lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme dat wordt

gebruikt. In de meeste gevallen zal de pH liggen tussen 6 en 7. De temperatuur zal meestal worden gekozen tussen 25. en 30°C.

5 Bij voorkeur wordt de rijping zodanig uitgevoerd dat ze volledig is. De duur van de rijping hangt af van de stationaire groeifase van het gebruikte microorganisme, en zal doorgaans tussen 12 en 24 uur bedragen. Dit heeft als gevolg dat de in het medium aanwezige voedingsstoffen verbruikt zijn en er geen of nauwelijks restanten van  
10 eventueel toegevoegde voedingsstoffen in het gerede zuivelproduct terecht zullen komen. Het moment waarop de rijping volledig is, kan geschikt worden bepaald door het gehalte van een of meer van de voedingsstoffen, bijvoorbeeld van glucose, te volgen. Het is tevens mogelijk  
15 om de groei van het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme te volgen met behulp van gebruikelijke plaattellingen.

Na de rijping wordt het verkregen product enige tijd onder anaërobe omstandigheden gebracht. Het is gebleken dat  
20 in de afwezigheid van zuurstof de aroma's van de rijpingsstam worden gevormd en bijzonder goed tot uitdrukking komen.

Tijdens de aromavorming past men bij voorkeur een neutrale pH toe. In de meeste gevallen zal een periode van  
25 5 tot 12 uur voldoende zijn om een goede aromavorming te verkrijgen.

Het aldus verkregen product is op zich voor consumptie geschikt. Het zal duidelijk zijn dat de vorming van de gewenste aroma's bijvoorbeeld kan plaatsvinden nadat  
30 het zuivelproduct is afgevuld in een houder, waar gebruikelijke anaërobe omstandigheden heersen. Veelal zal het verkregen product echter worden gethermiseerd om de houdbaarheid te vergroten. Voorts kunnen er, afhankelijk van de gewenste aard van het zuivelproduct dat wordt  
35 bereid, nog aanvullende bewerkingen worden uitgevoerd.

In een voorkeursuitvoeringsvorm vallen de anaërobe omstandigheden samen met een fermentatiestap. Na toevoeging van gebruikelijke fermentatiestammen wordt een anaërobe fermentatie uitgevoerd, waarbij lactose wordt omgezet in  
5 onder andere melkzuur.

Meer in detail wordt het product dat is verkregen na de rijping van het lactose-negatieve, levensmiddelen-technologisch aanvaardbare microorganisme behandeld met een melkzuurbacterie. Dankzij deze behandeling zal het  
10 zuivelproduct, met name wat betreft textuur en zuurgraad, grote overeenkomsten vertonen met bekende gefermenteerde zuivelproducten, zoals yoghurt of kwark. Vanwege de verandering van de zuurgraad in een behandeling van met een melkzuurbacterie wordt deze behandeling dikwijls aangeduid  
15 als verzuring.

De aard van de melkzuurbacterie zal door de vakman geschikt kunnen worden afgestemd op het gewenste product. De behandeling met de melkzuurbacterie kan op bekende wijze worden uitgevoerd en zal analoog zijn aan de behandeling  
20 van een melk of melkproduct met een melkzuurbacterie in de bereiding van gefermenteerde zuivelproducten die niet zijn behandeld met een lactose-negatief, levensmiddelen-technologisch aanvaardbaar microorganisme.

Het zal duidelijk zijn dat de uitvinding tevens  
25 betrekking heeft op een zuivelproduct dat kan worden bereid door een werkwijze zoals hierboven beschreven. Voorts heeft de uitvinding betrekking op de toepassing van een zuivelproduct dat volgens de uitvinding kan worden bereid in de bereiding van geautomatiseerde producten in de  
30 voedingsmiddelenindustrie.

De uitvinding zal thans nader worden toegelicht aan de hand van de volgende voorbeelden.



**Voorbeeld 1****Giststammen:**

- Candida zelanoides* CBS 2328 uit ampul  
*Candida zelanoides* ATCC 26318 uit ampul  
5 *Debaryomyces hansenii* ATCC 10623 uit ampul  
*Debaryomyces hansenii* ATCC 772 uit ampul

**Bacteriestam:**

*Arthrobacter nicotiana* ATCC 21279 vanaf plaat

**Glucose-oplossing:**

- 10 8 gram glucose per 100 g water (filter  
gesteriliseerd).

**Gistmedium:**

24 g potato dextrose broth (PDB van Difco 0549-17-9)  
+ 5 gram trypton per liter water.

15 **Bacteriemedium:**

5 gram trypton per 900 ml water. Gesteriliseerd bij  
120°C gedurende 15 min en verrijkt met 100 ml glucose-  
oplossing

**Substraat:**

- 20 volle UHT-melk.

**Opkweek**

- Een kolonie lactose-negatieve microorganismen wordt  
toegevoegd aan water met glycerol en de oplossing wordt  
25 verdeeld over meerdere ampullen en ingevroren. Vervolgens  
wordt 1 ml ontdooid medium toegevoegd aan 25 ml gist of  
bacteriemedium in een erlenmeijer van 100 ml. De  
erlenmeijer wordt afgesloten met cellulose watten en  
gedurende 72 uur aeroob bij 25°C (gisten) en 30°C  
30 (bacteriën) weggezet met een schudsnelheid van 200 rpm.

**Voorkweek**

- 5 ml opkweekmedium wordt toegevoegd aan 45 ml volle  
UHT-melk (substraat) in een erlenmeijer van 250 ml welke  
afsluitbaar is met watten. Deze oplossing wordt 24 uur of  
35 12 uur onder schudden bij 200 rpm en de juiste temperatuur

aeroob weggezet. Nadat de voorkweek is afgerond, worden de media gekoeld tot ca. 7°C.

### Resultaat

Na een aerobe groei van de lactose-negatieve,  
5 levensmiddelen-technologisch aanvaardbare gist *Candida*  
*zeylanoides* en een anaërobe aromavorming in melk ontstaat  
een product met een onderscheidende smaak, die is te  
associëren met Münsterkaas (stalsmaak). Als wordt uitgegaan  
van de lactose-negatieve bacterie *Arthrobacter* dan  
10 ontstaat, na een anaërobe aromavorming in melk, een  
chocoladesmaak. In dit product waren vertakte keten  
aldehyden de belangrijkste verbindingen die gedetecteerd  
konden worden met "dynamic headspace GCMS".

### 15 Voorbeeld 2

#### Giststammen:

*Candida zeylanoides* CBS 2328 uit ampul

*Candida zeylanoides* ATCC 26318 uit ampul

#### Bacteriestam:

20 *Arthrobacter nicotianea* ATCC 21279 vanaf plaat

#### Melkzuurbacteriën:

Voor de bereiding van yoghurt

#### Glucose-oplossing:

8 gram glucose per 100 g water (filter  
25 gesteriliseerd).

#### Gistmedium:

24 g potato dextrose broth (PDB van Difco 0549-17-9)  
+ 5 gram trypton per liter water.

#### Bacteriemedium:

30 5 gram trypton per 900 ml water. Gesteriliseerd bij  
120°C gedurende 15 min en verrijkt met 100 ml glucose-  
oplossing.

#### Substraat:

volle UHT-melk.

**Opkweek**

Een kolonie lactose-negatieve microorganisme wordt toegevoegd aan water met glycerol en de oplossing wordt voorts verdeeld over meerdere ampullen en ingevroren.

- 5 Vervolgens wordt 1 ml ontdooid medium toegevoegd aan 25 ml gist of bacteriemedium in een erlenmeijer van 100 ml. De erlenmeijer wordt afgesloten met cellulose watten en gedurende 72 uur aeroob bij 25°C (gisten) en 30°C (bacteriën) weggezet met een schudsnelheid van 200 rpm.

10 **Voorkweek**

- 5 ml opkweekmedium wordt toegevoegd aan 45 ml volle UHT-melk (substraat) in een erlenmeijer van 250 ml welke afsluitbaar is met watten. Deze oplossing wordt 24 uur of 12 uur onder schudden bij 200 rpm en de juiste temperatuur  
15 aeroob weggezet. Nadat de voorkweek is afgerond, worden de media gekoeld tot ca 7°C.

**Verzuring**

- De voorkweek wordt onder anaerobe omstandigheden verzuurd met een yoghurtcultuur bij 37°C tot eind-pH 4,5 en  
20 voorts gekoeld (tot ca. 5-7°C) afgevuld.

**Resultaat**

- Wanneer beide producten die zijn verkregen in Voorbeeld I met melkzuurbacteriën worden verzuurd, ontstaan er producten met een consistentie vergelijkbaar met die van  
25 yoghurt en een onderscheidende smaak, die duidelijk verschilt van de smaak van een niet-voorbehandeld, verzuurd melkproduct.

## CONCLUSIES

1.       Werkwijze voor het bereiden van een zuivelproduct, waarbij een medium omvattende melk of een melkproduct onder aërobe omstandigheden wordt behandeld met een lactose-negatief, levensmiddelentechnologisch aanvaardbaar  
5 microorganisme, en vervolgens gedurende enige tijd onder anaërobe omstandigheden wordt gehouden.
2.       Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij het microorganisme een gist of een bacterie is.
3.       Werkwijze volgens conclusie 2, waarbij de gist  
10 afkomstig is van de stam *Candida zelanoides*, *Debaryomyces hansenii* spp *hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida robusta*, of *Zygosaccharomyces rouxii*.
4.       Werkwijze volgens conclusie 2, waarbij de bacterie afkomstig is van de stam *Micrococcus luteus*, *Arthrobacter*,  
15 *Corynebacterium* of *Arthrobacter* ssp.
5.       Werkwijze volgens conclusie 1, waarbij het medium onder anaërobe omstandigheden wordt behandeld met een levensmiddelen-technologisch aanvaardbare melkzuurbacterie.
6.       Werkwijze volgens één van de voorgaande conclusies,  
20 waarbij het zuivelproduct wordt gethermiseerd.
7.       Zuivelproduct verkrijgbaar door een werkwijze volgens één van de voorgaande conclusies.
8.       Toepassing van een lactose-negatief, levensmiddelen-technologisch aanvaardbaar microorganisme voor het verlenen  
25 van een aroma aan een zuivelproduct.
9.       Toepassing van een zuivelproduct volgens conclusie 7 voor de bereiding van een gearomatiseerd product in de voedingsmiddelenindustrie.

## UITTREKSEL

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het bereiden van een zuivelproduct, waarbij een medium omvattende melk of een melkproduct onder aërobe omstandigheden wordt behandeld met een lactose-negatief, levensmiddelen-technologisch aanvaardbaar microorganisme, en vervolgens enige tijd onder anaërobe omstandigheden wordt gehouden. Voorts heeft de uitvinding betrekking op een zuivelproduct verkrijgbaar door die werkwijze.

REC'D 16 NOV 2000

PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference <b>P10074PC00</b>	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. <b>PCT/NL99/00569</b>	International filing date (day/month/year) <b>14/09/1999</b>	Priority date (day/month/year) <b>15/09/1998</b>
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC <b>A23C9/127</b>		
Applicant <b>CAMPINA MELKUNIE B.V. et al.</b>		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.



2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand <b>12/04/2000</b>	Date of completion of this report <b>14.11.2000</b>
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  <b>European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465</b>	Authorized officer <b>Heirbaut, M</b> Telephone No. +49 89 2399 8642 

**INTERNATIONAL PRELIMINARY  
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/NL99/00569

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of *(substitute sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).)*:

**Description, pages:**

1-11 as originally filed

**Claims, No.:**

1-9 as originally filed

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/NL99/00569

*(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)*

6. Additional observations, if necessary:

## **V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

### **1. Statement**

Novelty (N)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-9
Inventive step (IS)	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-9
Industrial applicability (IA)	Yes:	Claims	1-9
	No:	Claims	

2. Citations and explanations  
**see separate sheet**

## **VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:  
**see separate sheet**

## **VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:  
**see separate sheet**



## V

- 1 Reference is made to the following documents (D):

- D1: KWAK H S ET AL: 'BIOSTABILIZATION OF KEFIR WITH A NONLACTOSE-FERMENTING YEAST' JOURNAL OF DAIRY SCIENCE, vol. 79, no. 6, 1 June 1996 (1996-06-01), pages 937-942, XP000620045, cited in the application
- D2: C. DUTSCHAEVER: 'Pure culture formation and procedure for the production of kefir' MILCHWISSENSCHAFT, vol. 42, no. 2, 1987, pages 80-82, XP002103083 MUNCHEN DE
- D3: EP-A-0 346 884
- D4: FR-A-2 123 295
- D5: KAMALY K M ET AL: 'CHARACTERISTICS OF CHEDDAR CHEESE MADE WITH MUTANT STRAINS OF LACTIC STREPTOCOCCI AS ADJUNCT SOURCES OF ENZYMES' MILCHWISSENSCHAFT, vol. 44, no. 6, 1 January 1989 (1989-01-01), pages 343-346, XP000027926
- D6: US-A-3 563 760

- 2 The subject-matter of present independent claim 1 (method) does not meet the requirements of novelty (Article 33(2) PCT) in the light of any of the prior art documents D1-D4, which describe the combination of features disclosed in said claim.

Document D1 describes a process for the biostabilisation of kefir, using sequential fermentation of milk with a nonlactose-fermenting yeast culture and mixed cultures of lactic acid bacteria (see in particular abstract of D1). Kefir has **a unique flavour** (see in particular page 937, column 1, paragraph 1 of D1). A process is described in which a first fermentation of reconstituted NDM was carried out with a nonlactose fermenting yeast species, incubating at 31°C for 16h for alcohol production, after which the cultures were inoculated in NDM in **glass screw-cap tubes with teflon sealing**, after which the samples were stored at 25°C for 7 days and at 5°C for 14 days (see in particular page 938, column 1, last paragraph to column 2, first paragraph; page 939, column 1, paragraph 1 and column 2, paragraph 2 of D1). The fact that alcohol is produced during the first stage of

fermentation does not demonstrate anaerobic conditions, as alcohol is also produced under aerobic conditions in kefir production, and there is no indication of the application of anaerobic conditions. Hence, it is considered that the first stage of fermentation takes place under **aerobic conditions**.

Document D2 describes a kefir manufacturing process, in which a **homogenised milk coagulum** was inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* R-107 (being a non-lactose fermenting yeast), after which thorough mixing takes place, and the kefir base is distributed in a **glass bottle closed with a crown cap** and incubated at 20°C for 24 h, followed by storage at 4°C (see in particular page 80, column 1, paragraph 1, column 2, paragraph 3 of D2). It is considered that during the phase of thorough mixing, a treatment under **aerobic conditions** takes place.

Document D3 describes a process for producing kefir, which allows to control the formation of ethanol, using a yeast which assimilates neither lactose remaining in the product nor galactose to be formed by lactic acid fermentation (see in particular column 2, lines 15-25 of D3). A process in which a mixture based on **reconstituted skim milk** was inoculated with a starter of *Saccharomyces bisporus* (IFO-0467), *Candida solani*, *Streptococcus thermophilus* (IFO-3535) or *Torulopsis colliculosa* (IFO-0381), being non-lactose fermenting yeasts, incubation at 30°C for 18 hours, cooling to 5°C or lower, homogenisation and packing in **sealed containers** (see in particular examples 1-3, columns 5-7 of D3). The kefir-like fermented milk obtained contained 0.3% of ethanol produced by the yeast, and had a **characteristic flavour and taste** attributable to the ethanol and carbon dioxide (see in particular column 6, lines 4-8 of D3). The fact that alcohol is produced during the first stage of fermentation does not demonstrate anaerobic conditions, as alcohol is also produced under aerobic conditions in kefir production, and there is no indication of the application of anaerobic conditions. Hence, it is considered that the first stage of fermentation takes place under **aerobic conditions**.

Document D4 describes a process for the preparation of fermented milk products, comprising inoculating *Saccharomyces carlsbergensis* (being a non-lactose fermenting yeast) in **skimmed milk**, cultivating the mixture at 25°C for 24 hours and using this mixture as a starter for the production of a fermented milk product,

which is **stored in bottles** as a final consumer product (see in particular claims 1-6; example, pages 6-7 of D4). The fermented milk products obtained have a **pleasant flavour** (see in particular page 1, lines 36-37 of D4). There is no indication of the application of anaerobic conditions. Hence, it is considered that the first stage of fermentation takes place under **aerobic conditions**.

It appears that storage in glass screw-cap tubes or glass bottles closed with a crown cap represents **anaerobic conditions** (see also page 7, lines 5-8 of the present description).

- 3 The subject-matter of present independent claim 7 (dairy product) does not meet the requirements of novelty (Article 33(2) PCT) in the light of any of the prior art documents D1-D4, which describe the combination of features disclosed in said claim (see paragraph 2 of this communication).
- 4 The subject-matter of present independent claim 8 (use) does not meet the requirements of novelty (Article 33(2) PCT) in the light of any of the prior art documents D1-D4 (see paragraph 2 of this communication) or D5-D6, which describe the combination of features disclosed in said claim.

Document D5 describes a process for the manufacture of cheese, comprising adding cell pellets of *Streptococcus lactis* (25Sp) and *Streptococcus cremoris* (KHA2), being lactose-negative mutant micro-organisms, to reconstituted non-fat dry milk, then adding these to cheese milk before rennet addition, packaging of the cheese and ripening thereof at 7°C for 6 months (see in particular page 343, column 1, last paragraph to column 2, first paragraph of D5). The mutant-containing cheese had a **more intense cheese flavour** than did control cheese (see in particular page 344, column 2, last paragraph of D5).

Document D6 describes a process for the production of a yoghurt-like fermented milk, comprising culturing yeast in whole milk or skim milk, said yeast having no fermentability of lactose in whole milk or skim milk and **producing aromatic substances only** (see in particular column 2, lines 15-26 of D6).

It is stressed that the skilled person would clearly and unambiguously derive that the fermentation with a lactose-negative micro-organism described in documents D1-D5 **imparts an aroma** to the dairy product, even though this is not explicitly disclosed in said documents (PCT Guidelines C-IV, 7.2). Furthermore, present claim 8 does not indicate the application of **anaerobic conditions**.

- 5 The subject-matter of present independent claim 9 (use) does not meet the requirements of novelty (Article 33(2) PCT) in the light of any of the prior art documents D1-D4, which describe the combination of features disclosed in said claim (see paragraph 2 of this communication).

It is stressed that kefir is **an aromatised product in the food industry**.

- 6 Concerning the question whether the subject-matter of present independent claims meets the requirements of inventive step (Article 33(3) PCT), it is stressed that cited documents D1-D4 and D6 are related to the same technical problem as is the present application, ie to provide fermented milk products with good flavour.

## VII

1. The present application does not meet the requirements of Rule 5.1(a)(ii) PCT, as the relevant background art disclosed in the documents D2-D6 is not mentioned in the description, nor are these documents identified therein.

## VIII

1. The present application does not meet the requirements of clarity (Article 6 PCT).

The feature "in which the microorganism a yeast or a bacterium is" in present claim 2 lacks clarity. Amendment or deletion of said claim is required to overcome this objection.